

B. Belaid¹C. Le Goff²P.C. Lefèvre²

Enquête épidémiologique et sérodiagnostic de l'agalaxie contagieuse des petits ruminants de l'Est algérien

BELAID (B.), LEGOFF (C.), LEFEVRE (P.C.). Enquête épidémiologique et sérodiagnostic de l'agalaxie contagieuse des petits ruminants de l'Est algérien. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (1) : 37-41.

L'agalaxie contagieuse des petits ruminants, très largement répandue dans le monde entier, n'épargne pas la plupart des pays africains. Elle revêt une grande importance économique par les pertes en lait et en viande qu'elle occasionne. Sur les 15 millions de têtes d'ovins en Algérie, un tiers est concentré dans l'Est du pays. L'enquête effectuée a pour but de confirmer l'existence de la maladie et d'évaluer sa prévalence. Durant ce travail, 372 sérums et 80 échantillons de lait ont été prélevés sur des troupeaux suspects. Seuls les élevages présentant des signes de mammites et d'arthrites ou de mammites et de kératites ont été retenus. Les tests sérologiques appliqués ont permis non seulement de recenser les animaux positifs mais aussi de comparer leur spécificité et leur sensibilité. **Mots clés :** Petits ruminants - Agalaxie contagieuse - Épidémiologie - Diagnostic - Technique immunologique - Algérie.

INTRODUCTION

Le syndrome d'agalaxie contagieuse, connu depuis des décennies, peut entraîner de grandes pertes économiques, notamment en viande et en lait. Les mycoplasmoses peuvent être associées à d'autres maladies, infectieuses et parasitaires (9).

En 1923, BRIDRÉ et DONATIEN (2) ont cultivé des mycoplasmes responsables de ce syndrome et ont confirmé son existence en Algérie. Depuis, aucune preuve n'a été apportée par un laboratoire, alors que cette maladie est largement suspectée chez les ovins et les caprins.

Pour la première fois, une enquête a été menée, dans l'Est algérien, afin de confirmer l'existence de la maladie et d'en évaluer la prévalence. Dans cette zone, où le climat est difficile et les conditions d'alimentation souvent précaires, transhume une grande partie du cheptel ovien et caprin.

1. Institut National des Sciences Agronomiques, 05000 Batna, Algérie.

2. Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, 10 rue Pierre Curie, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France.

Reçu le 19.09.89, accepté le 12.10.89.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Enquête

Les zones où la maladie est suspectée ont été localisées sans difficulté grâce à l'aide des vétérinaires-inspecteurs présents sur les lieux depuis de nombreuses années. Huit wilayas (départements) sont concernées par l'enquête : Biskra, Batna, Constantine, Khenchela, M'Sila, Oum-El-Bouaghi, Sétif et Tébessa (Carte 1).

Il est important de signaler que ces régions à climat rude et pluviométrie faible prédisposent les animaux à différentes maladies infectieuses et parasitaires.



Carte 1 : Situation géographique de la zone d'enquête.

Seuls les troupeaux présentant des signes de mammites et d'arthrites ou de mammites et de kératites associés sont considérés comme intéressants. L'enquête a eu lieu cinq mois et plus après l'agnelage, et souvent après réforme des animaux malades, diminuant ainsi les chances d'isolement des souches responsables.

Sur les animaux ayant échappé à la réforme, un quartier de la mamelle déjà atrophié, avec arrêt de la production de lait, et une atteinte récente du deuxième quartier signalent un foyer ancien avec de nombreuses récurrences. Dans les troupeaux suspects, même des laits d'apparence normale sont prélevés, car ces derniers peuvent aussi contenir de nombreux germes (4).

Tests de laboratoire

Les différents échantillons prélevés sur le terrain sont acheminés vers le Service de pathologie infectieuse de l'EMVT.

Les laits sont ensemencés sur boîtes de Petri, en milieu HIA et en tubes de bouillon HIB. Ces milieux sont enrichis, comme pour tous les mycoplasmes, par du sérum de cheval et de l'extrait de levure. Pour stopper la multiplication des germes gênants, il est ajouté un antibiotique (Totapen) et de l'acétate de thallium.

Les sérums ont subi plusieurs tests dont l'inhibition de croissance (IC), la fixation du complément (FC) et la méthode ELISA.

Test d'inhibition de croissance

Sur des boîtes de Petri de petit diamètre, une souche de référence par boîte est ensemencée (*Mycoplasma agalactiae* (Ag 1), *Mycoplasma capricolum* (7714), *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC (7302)) et plusieurs puits sont creusés dans la gélose pour tester les sérums. Si des anticorps antisouche ensemencée sont présents, il y a inhibition de la croissance de celle-ci.

Test de fixation du complément (FC)

Depuis sa description par PERREAU, LE GOFF et GIAUFFRET en 1976 (8), ce test a subi quelques modifications (6), dont la principale est l'emploi de 2,5 unités de complément. Les souches utilisées pour la préparation des antigènes seront traitées aux ultrasons et au dodécylsulfate de sodium (SDS), puis titrées selon la méthode en échiquier.

Test ELISA

Ce test a été choisi pour sa grande sensibilité et sa simplicité d'exécution. Il a déjà fait ses preuves dans le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine (5).

Les mêmes souches sont utilisées et subissent des traitements identiques à ceux de la fixation du complément. Le protocole expérimental est le suivant : Ag + sérum suspect + antiglobuline de lapin anti-mouton couplée à la peroxydase + substrat (OPD) + H₂SO₄ (solution d'arrêt) + lecture de la densité optique à 492 nm.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Aucune souche n'a pu être isolée à partir des 80 laits ensemencés. Ce résultat était prévisible étant donné la période de l'enquête, et les traitements antibiotiques que les éleveurs entreprennent sans l'avis du vétérinaire.

Avec le test d'inhibition de croissance, tous les sérums sont également négatifs.

Les résultats du test de fixation du complément sont regroupés dans le tableau I :

— les réactions positives au 1/10 sont considérées comme non significatives car elles sont probablement dues à des maladies parasitaires ; des signes de gale, d'hydatidose et de bronchite vermineuse étant présents chez certains animaux ;

— les réactions au 1/20, d'interprétation douteuse, témoignent sans doute d'une infection ancienne, vu les nombreuses séquelles observées (atrophie des mamelles, boiteries, ankylose...).

Il en résulte que le seuil de positivité est fixé à 1/40 au vu des signes cliniques associés : mammites, arthrites. Cette constatation rejoint celle faite par LE GOFF et PERREAU (6). En fait, très peu de sérums sont positifs. Toutefois, à Biskra et Oum-El-Bouaghi, des résultats positifs au-delà du 1/80 avec *M. capricolum* permettent d'affirmer que les animaux ont bien été en contact avec cette souche. Les résultats obtenus ne permettent qu'une suspicion de *M. agalactiae* et *M. mycoides mycoides* LC.

Pour le test ELISA (Tabl. II), à partir des sérums négatifs, des seuils de positivité en densité optique ont été établis : 0,3 pour *M. capricolum*, 0,4 pour *M. agalactiae* et *M. mycoides mycoides* LC. Au-delà de ces valeurs, les sérums sont considérés comme posi-

TABLEAU I Résultats du test de fixation du complément.

Région	Antigène	<i>M. agalactiae</i>			<i>M. capricolum</i>					<i>M. mycoides</i>			Observations
	Nbre sérums	Dilution sérum			Dilution sérum					Dilution sérum			
		1/20	1/40	1/80	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/20	1/40	1/80	
Batna	86	6	0	0	6	2	0	0	0	6	2	0	Croisements entre <i>M. capricolum</i> et <i>M. mycoides</i>
Biskra	50	6	2	0	21	3	3	2	2	4	2	0	Croisements entre <i>M. capricolum</i> et <i>M. mycoides</i> au 1/20
Constantine	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Khenchela	20	2	1	0	2	2	0	0	0	4	4	0	Croisements entre <i>M. capricolum</i> et <i>M. mycoides</i>
M'Sila	20	4	0	0	11	2	0	0	0	8	1	0	
Oum-El-Bouaghi	78	6	2	0	23	9	3	3	2	18	0	0	
Sétif	34	12	2	0	16	4	0	0	0	15	3	0	Croisements entre les 3 souches jusqu'au 1/20
Tébessa	34	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
Total	372	37	7	0	81	22	6	5	4	55	12	0	
Taux de sérums positifs au 1/40		2 + 1,5 p. 100*			6 + 2,5 p. 100*					3 + 1,8 p. 100*			

Les chiffres indiqués sous les dilutions représentent le nombre de sérums fixant intensément le complément. Seules sont prises en compte les réactions positives présentant une hémolyse totale (4 +).

* Pourcentage avec intervalle de confiance à 95 p. 100.

TABLEAU II Résultats du test ELISA.

Région	Antigène	<i>M. agalactiae</i>	<i>M. capricolum</i>	<i>M. mycoides</i>	Observations
	Nbre sérums	Dilution du sérum à 1/400	Dilution du sérum à 1/400	Dilution du sérum à 1/400	
Batna	86	2	12	10	Croisements
Biskra	50	10	28	15	Croisements
Constantine	50	8	3	1	
Khenchela	20	4	6	13	Croisements
M'Sila	20	4	8	6	
Oum-El-Bouaghi	78	22	30	20	Croisements
Sétif	34	12	13	15	Croisements
Tébessa	34	1	3	5	
Total	372	63	104	85	
Taux de sérums positifs		17 + 3,9 p. 100*	28 + 4,7 p. 100*	23 + 4,3 p. 100*	

Les chiffres indiqués sous les dilutions représentent le nombre de sérums positifs pour chaque souche de mycoplasme.

* Pourcentage avec intervalle de confiance à 95 p. 100.

tifs. Il est intéressant de signaler que certains sérums sont positifs avec le test ELISA et négatifs en fixation du complément. Malgré les dilutions effectuées, dans le but d'éliminer les réactions non spécifiques, beaucoup de croisements subsistent.

Une bonne concordance s'observe pour les deux tests

(Tabl. III). La sensibilité du test ELISA et la spécificité de la fixation du complément sont confirmées.

Pratiquement, tous les sérums positifs en fixation du complément le sont en ELISA, sauf pour quatre sérums (Tabl. III). Ces 4 sérums positifs avec le test de

TABLEAU III Comparaison entre le test de fixation du complément (FC) et le test ELISA.

<i>Mycoplasma agalactiae</i>			
		FC	
		+	-
ELISA	+	a = 7	b = 57
	-	c = 0	d = 309
Spécificité du test ELISA/FC = $\frac{d}{b + d} = \frac{309}{365} = 0,85$, soit 85 p. 100			
Sensibilité du test FC/ELISA = $\frac{a}{a + b} = \frac{7}{64} = 0,11$, soit 11 p. 100			
<i>Mycoplasma capricolum</i>			
		FC	
		+	-
ELISA	+	a = 22	b = 82
	-	c = 4	d = 264
Spécificité du test ELISA/FC = 76 p. 100			
Sensibilité du test FC/ELISA = 21 p. 100			
<i>Mycoplasma mycoides</i> LC			
		FC	
		+	-
ELISA	+	a = 12	b = 73
	-	c = 4	d = 283
Spécificité du test ELISA/FC = 80 p. 100			
Sensibilité du test FC/ELISA = 14 p. 100			

Les comparaisons sont établies d'après la formule de BOMMELI et KHIN (1).

fixation du complément sont probablement dus au fait que les anticorps mis en jeu (IgM, IgG) se maintiennent longtemps à un titre sans équivoque, comme l'a souligné PERREAU (7).

CONCLUSION

D'après les résultats des différents tests, on peut conclure que l'agalaxie contagieuse des petits ruminants est présente sur la zone d'étude, surtout du fait de *M. capricolum*.

BELAID (B.), LEGOFF (C.), LEFEVRE (P.C.). Sero-epidemiological survey of contagious agalactia on small ruminants in Eastern Algeria. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (1) : 37-41.

Contagious agalactia is largely present all over the world and affects most of the African countries. It plays an important economic role in terms of subsequent milk and meat losses. One third of the 15 millions of sheep living in Algeria is present in the Eastern regions. A survey was conducted in order to confirm the existence of the disease and to evaluate the prevalence. A total of 372 sera and 80 milk samples was collected from suspected herds *i.e.* herds presenting either mastitis and arthritis symptoms or mastitis and keratitis symptoms. It was possible using several serological tests to detect the positive animals and to compare the specificity and sensitivity of the tests. *Key words* : Small ruminants - Contagious agalactia - Epidemiology - Immunological test - Diagnosis - Algeria.

Le faible taux d'anticorps décelés dans les sérums suspects, l'absence d'isolement d'une ou plusieurs souches responsables, permettent de penser que l'enquête a été menée en fin d'évolution de la maladie.

Pour éliminer les difficultés d'interprétation des résultats liés aux réactions croisées, il serait utile de purifier l'antigène pour obtenir un diagnostic plus précis. Il serait également intéressant de faire appel aux anticorps monoclonaux pour la mise au point de tests ELISA de compétition.

BELAID (B.), LEGOFF (C.), LEFEVRE (P.C.). Investigación epidemiológica y diagnóstico serológico de la agalaxia contagiosa de los pequeños rumiantes en el este algerino. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (1) : 37-41.

La agalaxia contagiosa de los pequeños rumiantes se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, incluyendo la mayoría de los países africanos. Esta enfermedad tiene una gran importancia económica, debido a las pérdidas de carne y leche que ocasiona. Una tercera parte de los quince millones de ovinos existentes en Algeria se encuentran al este del país. La finalidad de esta investigación es el confirmar la existencia de la enfermedad y evaluar su prevalencia. Durante este trabajo, se obtuvieron 372 muestras de suero y 80 de leche, provenientes de hatos sospechosos. Solamente se muestrearon los establecimientos en los que se presentaron signos de mastitis y artritis o mastitis y queratitis. Los tests serológicos permitieron detectar los animales positivos, así como comparar la especificidad y la sensibilidad. *Palabras claves* : Pequeños rumiantes - Agalaxia contagiosa - Epidemiología - Prueba inmunológica - Diagnóstico - Algeria.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOMMELI (W.), KHIN (U.). The nucleus of the IBR/IPV control programm in Switzerland. In : WARDLEY (R.C.), CROWTHER (J.R.), ed. The ELISA : enzyme linked immunosorbent assay in veterinary research and diagnosis. Proc. meeting Univ. of Surrey, Guildorf, UK, Sept. 15-17 1981. The Hague, Martinus Nijhoff, 1982. P. 242-251. (Current topics in veterinary medicine and animal science n° 22).
2. BRIDRÉ (J.), DONATIEN (A.). Le microbe de l'agalaxie contagieuse et sa culture *in vitro*. *C.r. Acad. Sci. (D) Paris*, 1923, 177 : 841-843.
3. BRIDRÉ (J.), DONATIEN (A.). Le microbe de l'agalaxie contagieuse du mouton et de la chèvre. *Annls Inst. Pasteur*, 1925, 12 : 925-951.
4. LAMBERT (T.M.). Agalaxie contagieuse des brebis et des chèvres. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, 1987, 6 (3) : 681-697.
5. LE GOFF (C.). Technique immunoenzymatique appliquée au diagnostic sérologique de la péripneumonie. Note préliminaire. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1986, 39 (2) : 171-173.
6. LE GOFF (C.), PERREAU (P.). Le diagnostic sérologique de l'agalaxie contagieuse des petits ruminants : possibilités et limites. In : Les maladies de la chèvre, Niort, France, 9-11 octobre 1984. Paris, INRA, 1984. P. 271-278 (Les colloques de l'INRA n° 28).
7. PERREAU (P.). Les mycoplasmes des bovins et leur sérologie. In : BOVÉ (D.M.), DUPLAN (J.F.). Les mycoplasmes de l'homme, des animaux, des végétaux et des insectes. Congrès Int., Bordeaux, France, 11-17 sept. 1974. Paris, INSERM, 1974. P. 349-356.
8. PERREAU (P.), LE GOFF (C.), GIAUFFRET (A.). Le diagnostic sérologique de l'agalaxie contagieuse des petits ruminants : un test de fixation du complément. *Bull. Acad. vét. Fr.*, 1976, 49 : 185-192.
9. TAOUDI (A.). Épidémiologie des infections à mycoplasmes chez les bovins et les petits ruminants au Maroc. Étude de *Mycoplasma capricolum*. Thèse d'État, Univ. Clermont-II, 1986. 253 p.